

Die Abhängigkeit
der Verschleimung von
Paratyphusbazillen
von chemischen Stoffen.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer hohen, medizinischen Fakultät der

Bayer. Ludwig - Maximilians - Universität in München

vorgelegt von

Albrecht Braun.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153302_0238

Die Abhängigkeit
der Verschleimung von
Paratyphusbazillen
von chemischen Stoffen.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer hohen, medizinischen Fakultät der

Bayer. Ludwig - Maximilians - Universität in München

vorgelegt von

Albrecht Braun.

Referent:

Geheimrat Professor Dr. KISSKALT.

Gedruckt mit Genehmigung der med.
Fakultät der Universität München.

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit
gewidmet.

Die Abhängigkeit der Verschleimung von Paratyphusbazillen von chemischen Stoffen.

I. Das Schrifttum über die Differentialdiagnose in der Paratyphusgruppe.

In medizinischen und tierärztlichen Kreisen ist in den letzten Jahren das sog. Paratyphusproblem lebhaft besprochen worden. Während man bisher der Ansicht war, daß innerhalb der Paratyphusgruppe konstante kulturelle Unterscheidungsmerkmale für die einzelnen Vertreter bzw. Typen nicht vorhanden seien (UHLENHUTH), war schon von jeher die Lehre der Kieler Schule, daß man gerade auf kulturelle Unterscheidungsmerkmale achten müsse.

Schon 1902/03 hatten DRIGALSKI, CONRADI, JÜRGENS und FISCHER auf ein kulturmorphologisches Kennzeichen mancher Paratyphusbazillen, die sog. Schleimwallbildung hingewiesen. REINER MÜLLER beobachtete 1913 diese Schleimwallbildung gerade bei den typhös verlaufenden Fällen von Paratyphus. Die gleiche Eigenschaft fand er auch bei den sog. Gärtnerbazillen, die einzige Art, von der UHLENHUTH wenigstens ihre serologische Sonderstellung gelten ließ. Auf der Suche nach weiteren kulturmorphologischen Unterscheidungsmerkmalen fand REINER MÜLLER Knöpfchenbildung der Schleimwallbildner auf Raffinoseagar. Es wurden dann in den Nachkriegsjahren im Kieler Institut von L. BITTER und seinen zahlreichen Mitarbeitern an großem Material die bisher gewonnenen Ergebnisse in der Typenfrage geprüft. Das Ergebnis war die urfächliche Trennung des Krankheitsbildes der akuten Gastroenteritis (erzeugt durch das nicht schleimwallbildende Bact. enteritidis Breslau und das schleimwallbildende aber serologisch zu trennende Bact. enteritidis Gärtner) von dem Krankheitsbilde des typhösen Paratyphus (erzeugt durch das schleimwallbildende Bact. paratyphi B. Schottmüller).

Die sog. Schleimwallbildung wurde stets von der Kieler Schule als Hauptunterscheidungsmerkmal der Paratyphaceen angesprochen. Daneben zeigte sich, daß die eben genannten Erreger der akuten Gastroenteritis bei Verfütterung an Mäuse ein ganz bezeichnendes Krankheitsbild auslösten, das früher unter dem Namen „Mäufetyphus“ von einem bestimmten Bazillus, dem Löffler'schen Mäufetyphusbazillus verursacht sein sollte. Die Untersuchung von BITTER, SONNENSCHNIG und KNORR haben jedoch die Identität des Mäufetyphusbazillus mit dem Bact. enteritidis Breslau ergeben. Auch die serologische Typentrennung ist im Laufe der Zeit mit Hilfe der sog. Rezeptorenanalyse (MANTEUFFEL, BEGER) weiter fortgeschritten, sodaß neuerdings UHLENHUTH und SEIFFERT folgende Einteilung vornehmen:

- Den Typus Paratyphi B. hominis, der drei
- den Fleischvergiftertypus Freiburg, der zwei von diesen
- und den Fleischvergifter Breslau, der nur einen dieser

ätiologisch bedeutsamen Rezeptoren besitzt. Daneben noch den sog. Schweinepestbazillus, der über den ihm eigentümlichen Pestiferreceptor verfügt.

Wir sehen also, daß die Kieler Lehre von der Möglichkeit der Typentrennung innerhalb der Paratyphusgruppe im Laufe der letzten Jahre allgemein an Boden gewonnen hat, sodaß es heute nur noch wenige Forscher gibt, die die praktische Bedeutung für die Typentrennung in der Paratyphusgruppe eingeschränkt oder unbeachtet wissen wollen.

Es sind überdies in den letzten Jahren teilweise schon vor Bekanntwerden der Ergebnisse der Receptorenanalyse weitere Unterscheidungsmerkmale in der Paratyphusgruppe gefunden worden, die ebenfalls dazu beitragen, die Artuntercheidung zu stützen: Das Herabrutschen der Schottmüller auf schräger Gelatine, die Höhe der Agglutinabilität der Breslaufämme im Vergleich mit Schottmüller-Stämmen mit hochwertigen Breslau-Sera, die Wuchsform auf Gelatine (Kuppenform mit flammenförmiger Zeichnung für Schottmüller — L. HEIM — Weinblattform bei Breslau — KNORR —), die Rhamnose — Methylrotreaktion (BITTER, WEIGMANN, HABES), Farbumschlag nach 15 Stunden in Gelb bei Schottmüller und Gärtner, in Rot bei Breslau. Aber allen diesen Unterscheidungsmerkmalen wird lange nicht die Bedeutung beigegeben, wie der Schleimwallbildung. Dies kommt daher, daß die Untersuchungen für den praktischen Laboratoriumsbetrieb zu umständlich sind (z.B. Receptorenanalyse) oder daß noch nicht ausreichende Untersuchungsreihen, die zu einer endgültigen Beurteilung nötig wären, vorliegen. Es kann auch nicht verschwiegen werden, daß die Fehlerbreite mancher Reaktionen zu groß war, mag dies nun an den häufig nicht übersehbaren Verhältnissen biologischer Reaktionen überhaupt, oder an der Unkenntnis über die Ursachen derartiger Reaktionen liegen.

Selbst bei der Schleimwallbildung kann man die Ergebnisse nur im Großen und Ganzen als übereinstimmend bezeichnen. Es war natürlich zu erwarten, daß wie überall in der Biologie, keine absolute Sicherheit mit dem Anwachsen der Zahl der geprüften Stämme festzufallen sein wird. Man muß sich nur fragen, ob bisher überhaupt eine biologische Reaktion in 100 % als eindeutig befunden wurde. Es fehlte noch an Unterlagen, die nötig wären, um die abweichenden Ergebnisse einzelner Untersucher richtig beurteilen zu können. Wir wissen jetzt, nachdem sich die Untersuchungslaboratorien endlich dazu verstanden haben, die herausgezüchteten Paratyphusstämmen auf Schleimwallbildung zu prüfen und mit dem klinischen Bild in Zusammenhang zu bringen, sehr viel über den praktischen Wert der Schleimwallbildung, auffallend wenig jedoch über die Ursachen und Bedingungen ihres Zustandekommens. Wir haben nach den verschiedensten Richtungen diese Ursachen und Bedingungen festzulegen versucht. Mir fiel die Aufgabe zu, die Beeinflussung der Wallbildung von chemischen Stoffen zu studieren.

II. Die Abhängigkeit der Verschleimung von chemischen Stoffen.

A. Nähragarversuche.

1. Wirkung des Kochsalzes auf die Schleimwallbildung.

Nach ELKELES ist Kochsalz ein chemischer Reizstoff von hervorragender walltreibender Wirkung. Mit zunehmender Kochsalzkonzentration steigt die Wallbildung, bis das Wachstum aufhört, mit fallender sinkt sie bis zum völligen Ausbleiben des Walles. Züchtet man die Keime in Salzsäurebrühe, dann soll ähnliche Wirkung bei Ausaat auf Nährböden zu erzielen sein. Auch die walllosen Breslau-Bakterien sollen auf derartige Reize die Erscheinung der Wallbildung zeigen (ELKELES). Nach ELKELES sollen nur junge Breslaufämme für derartige Versuche geeignet sein. Nachdem es uns aber gelungen war, wenigstens einigermaßen die Ursache der Schleimwallbildung auf gewöhnlichem Nähragar (nähere Angaben siehe KNORR) ausfindig zu machen und in der Hand zu haben, haben wir bei Zusatz von Kochsalz zu derartig optimal eingestellten Nähr-

agargemischen bei jahrelang im Laboratorium fortgezüchteten Breslauftämmen deutliche Wallbildung gesehen. Ein Auszug aus den Untersuchungen gibt darüber Aufschluß. Die Nährbodendicke ist mit Hilfe des Sphärometers, die Wallbreite mit Hilfe des Ocularmikrometers gemessen.

Wallstärke u. Agardicke in mm bei ‰ NaCl.					Bebrütung.
	1,5	3,0	4,5	6,0	
231	0 3,1	0 3,5	0,5 3,2	+ ¹⁾ 2,8	36 St. 37°, 4 Tg. 22°
232	0 2,3	0,3 3,75	0,5 3,8	0,5 3,8	dgl.
Mak.	0 2,95	0 3,5	0,3 3,2	0,3 3,1	dgl.
Frik	0 3,1	0 3,5	0,3 4,0	0,3 3,0	dgl.
228	0 3,4	0 3,7	0 3,7	0 3,2	18 St. 37°, 3 Tg. 22°
325	0 3,0	0 3,15	1,0 3,2	1,0 3,25	dgl.
317	0 3,0	0 3,5	0 2,85	1,0 1,9	dgl.
228	0 2,75	0 2,5	0 3,5	völlig ²⁾ 2,75	3 Tg. 22°
325	0 3,0	völlig 3,15	völlig 2,75	+ +	dgl.
317	0 3,3	0 2,1	+ +	+ +	dgl.

¹⁾ + = Wachstum fehlt.

²⁾ = Rasen in ganzer Breite verschleimt.

ELKELES sieht Kochsalz als Reizstoff an. KNORR dagegen glaubt, da nach unseren Untersuchungen mit Hilfe der Zettnow'schen Geißelfärbung, die Keime des Schleimwalls auffallend geißelärmer waren, als die der nicht verschleimten Keime, daß Kochsalz in stärkeren Konzentrationen eine eingreifende Aenderung im Aufbau des Protoplasmas bedingt. Sie führt zum Verluste der Geißeln und bei gleichzeitiger geringerer Temperatur (22 °) zur Verschleimung der Keime.

2. Traubenzucker.

Unter all' den Stoffen, die unter unseren Nähragargemischen vorhanden sein können, ist keiner von so einschneidender Bedeutung, wie der Traubenzucker. Es lag nahe, die Wallbildung in ihrer Abhängigkeit von Traubenzucker zu untersuchen. In zahlreichen Versuchsreihen wurde aus annähernd zuckerfreier Rindfleischnährbrühe 3 %iger Nähragar Ph 8,0 bereitet und 0,25, 0,5 und 1% Traubenzucker zugefetzt. Folgende Tabelle gibt einen Auszug aus den Versuchen:

Bebrütung 24 St. bei 37°, 48 bei 22°.

Wallbreite in mm.

Stamm	0,25%	0,5	1,0
Schott S.B.V.	2,7	0	0
" 237	1,2	0	0
" 235	2,5	0	0
" 121	2,0	0	0
" 122	2,0	0	0
" 236	1,95	0	0
Gärt. 324	0,8	0	0
" 329	1,0	0	0

Das Wachstum der Schottmüller und Gärtnerstämme in Reihe II 0,5 und 1,0 % Traubenzucker entsprach den zur Kontrolle ausgeftrichenen Breslau-
stämmen, trocken, Falten im Rafe, Rafea metallisch schillernd, Rand unregelmäßig mit weinblattähnlichen Zeichnungen. Gerade diese Versuche zeigen, wie wenig wir unsere Nährbodengemische in der Hand haben, um Veränderungen der Wallbildung richtig beurteilen zu können. Unmöglich können zwei Laboratorien selbst mit den gleichen Stämmen gleiche Ergebnisse haben, wenn in einem etwa, wie das häufig üblich ist, geringe Mengen Zucker zum Nähragar gegeben werden, im anderen nicht, Unterschiede, die sich noch mehr auswirken, wenn etwa in dem einen Laboratorium als Grundlage das zuckerhaltigere Pferdefleischwasser, in dem anderen das zuckerärmere Rindfleischwasser benützt wird.

B. Zusatz chemischer Stoffe zu Wasseragar als Grundlage.

Das Arbeiten mit Nähragargemischen hat stets etwas Unüberfichtliches an sich, selbst nachdem es gelungen war, die Abhängigkeit der Schleimwallbildung von verschiedenen Faktoren wie Wasserstoffionenkonzentration, Kochsalz- und

Traubenzuckergehalt, bestimmter Temperatur von 22° , Agarkonzentration und -Dike zu erfassen, waren immer noch Abweichungen vorhanden. Sie beruhen zum Teil nach neueren Untersuchungen wohl auf verschiedener Art der Sterilisation; aber man kann wohl behaupten, daß wir beim Versuch in Nähragargemischen alle wallbildenden Faktoren zu erfassen, nicht zu Ende kommen würden. Wir müssen uns damit begnügen für den praktischen Betrieb die Fehlerquellen nach Möglichkeit zu erfassen und auszuschalten, und froh sein, wenn uns dies in einem gewissen Umfange gelungen ist. Etwas Anderes ist es dagegen, wenn wir mehr nach der theoretischen Seite die Abhängigkeit der Wallbildung von bestimmten chemischen Stoffen darstellen wollen. Wir kommen damit wieder zum Kochsalz. Die Bedeutung des Kochsalzes für die Wallbildung in Nähragargemischen kann, wie wir gesehen haben, einseitig als Störung im Aufbau des Protoplasma infolge zu guter oder zu schlechter Ernährung angesprochen werden. Das Kochsalz hat in diesem Zusammenhang nur die Rolle eines Vermittlers. Die Kochsalzversuche haben auch infolge ihrer Abhängigkeit von der übrigen unbekannten Zusammensetzung des Nähragars den großen Nachteil, daß die Ergebnisse an verschiedenen Tagen, selbst mit gleichen Stämmen, nicht gleichmäßig ausfallen. Die durch Kochsalz erzielte Wallbildung geht auch häufig auffallend rasch zurück und wenn man nicht täglich mikroskopisch untersucht, werden besonders die örtlich begrenzten geringen Wallbildungen leicht übersehen. Die Ursache dürfte wohl darin zu suchen sein, daß bald mehr bald weniger Keime auf bestimmte Kochsalzkonzentration in bestimmter Weise reagieren. Wir haben deshalb weitere Versuche mit Wasseragar als Grundlage angestellt.

TECHNIK: Wenn man auf Agar als Grundlage für Nährböden angewiesen ist, weiß man von vornherein, daß chemisch ganz reine Verhältnisse nicht zu schaffen sind. Man kann den Agarfehler nur verkleinern. Wir suchten dies durch besonders kräftiges Waschen des fein zerschnittenen Agars mit chemisch einwandfreiem destilliertem Wasser zu erreichen. 45 gr Agar wurden mindestens zwei Tage lang mit destilliertem Wasser gewaschen und ausgepreßt. Erst dann, wenn der Agar bläulich schimmerte, und das Waschwasser ganz klar erschien, wurde der Agar benützt. Damit haben wir alles getan, was bei den gegebenen Verhältnissen möglich war. Also BRAUN und CAHN-BRONNER haben bei ihren sorgfältigen ernährungsphysiologischen Arbeiten vergleichsweise mit destilliertem Wasser gereinigten Agar benützt und fanden prinzipielle Unterschiede mit Nährflüssigkeiten nicht. Da wir nur einfachere und gleichmäßigere Verhältnisse schaffen wollten als sie mit Fleischwasseragar gegeben sind, und somit eine streng ernährungsphysiologische Fassung nicht nötig war, konnten wir auch auf Bergkryallgeräte verzichten. Die zu unseren Zwecken nötige Ausdehnung der Versuche hätte dies ohnehin unmöglich gemacht.

Die Stoffe, die zu dieser Grundlage kamen, wurden reinigt bezogen und besonders sterilisiert zum sterilen Agar gegeben. Die Einstellzeit geschah, wenn nichts Anderes bemerkt, auf Ph 7,8 am fertigen Gemisch durch Zugabe steriler Sodalösung. Zu allen Nährmitteln kam noch 7 g° Lackmuslösung, um die Wallbildung besser beobachten zu können.

Die Bedeutung der AUSGANGSKULTUR für das Wachstum wurde zunächst durch Beimpfung von alkalischen Wasseragarplatten ohne Zusatz untersucht. Die Aussaaten von Brühkulturen ergaben häufig in der ersten Passage dürftiges aber deutliches Wachstum. Bei Abimpfen dieser Kulturen auf weitere Platten stellte sich schon in der zweiten Passage oft nur mikroskopisch deutliche Koloniebildung ein, die sich schließlich in der dritten Passage nur auf einige Kolonien beschränkte. Es kam auch sehr häufig vor, daß trotz Ausaat einer Ofse Brühkultur auf dem Wasseragar überhaupt kein Wachstum zu erzielen war. Man hätte den Ausweg gehabt, stets aus entsprechenden synthetischen Nährflüssigkeiten auszusäen. Dies war jedoch nur bei bestimmten chemischen Zusätzen, die Nährstoffe darstellen, möglich. In physiologischer Kochsalzlösung z.B. werden die Keime nicht nur nicht gedeihen, sondern sogar mehr oder weniger stark geschädigt. Unsere Kochsalzversuche beschränkten wir darauf, daß zu dem Wasseragar Kochsalz in steigender Menge von $0.5 - 5 \text{ g}^{\circ}$ zugesetzt wurde. Diese Plattenreihen wurden mit 4 Schottmüller und zwei Breslaustämmen beimpft. Zur Ausaat wurde eine Kultur aus einer Ammonium lacticum Nährlösung benützt. Auf Wasseragar allein zeigte sich ein kümmerliches Wachstum. Mit zunehmender Kochsalzkonzentration nahm

naturgemäß auch dieses Wachstum ab, um bei 5 % vollständig zu verschwinden. Die im Wasseragar vorhandenen oder durch Uebertragung bei der Ausaat auf den Wasseragar kommenden Nährstoffe ermöglichten selbst in Verbindung mit diesen ein kümmerliches Wachstum erzeugenden Stoffen keine Wallbildung, wie vorauszusehen war. Es schien deshalb erwünscht einerseits einen Stoff zu finden, dessen Bedeutung als direkter Nährstoff für die Keime nicht zu bezweifeln war, und der gleichzeitig die Wallbildung ermöglichte.

Gleichmäßige Ergebnisse waren unbedingt erwünscht, wenn unsere Versuche nicht nur die Ursachen, sondern auch die Folgen der Verschleimung einigermaßen klären sollten.

Wenn hier zum ersten Mal anstatt von Schleimwallbildung von Verschleimung die Rede ist, so erfordert dies einige Erläuterungen.

Andere Untersuchungen hatten ergeben, daß zwar der log. Schleimwall auf den Temperaturwechsel von 37 auf 22° zurückzuführen ist, daß aber auch ohne Temperaturwechsel bei 22° die log. Verschleimung mancher Paratyphusarten auf NÄHRAGAR eintritt. Die Aufwulstung verschleimter Randteile bei 22° ist nur eine Folge besserer Ernährungsbedingungen. Diese müssen aber zu Schleim- und Schleimwallbildung vorhanden sein. Ein Bakterienrasen wächst wohl bei sehr geringer Nährstoffmenge in der Breite, bildet aber erst dann an seinem freien Rande Schleim, wenn die Nährstoffmenge vergrößert wurde. Somit ergab sich, daß die Schleimbildung der Ausdruck einer quantitativ besseren Ernährung ist. Wie aber schon mehrmals betont, ist diese bessere Ernährung bei normalen Keimen nur bei 22° von Schleimbildung begleitet, sodaß die Vorstellung wenigstens nach einer Richtung vertretbar ist, daß nur bei langsamem Aufbau der Bakterienzelle die bessere Ernährung voll zur Wirkung kommen kann. Ob nun dieser langsame Aufbau bei guten Ernährungsbedingungen durch stärkere Kochsalzkonzentration oder durch Desinfektionsmittel gewährleistet wird, erscheint völlig gleichgültig. Unerklärbar ist nur die Rolle der Temperatur. Denn wenn die Verzögerung des Wachstums allein ausschlaggebend wäre, so müßte durch Zusatz der oben genannten Mittel zu Nähagar und Bebrütung bei 37° Schleimwallbildung auftreten. Dies ist aber noch nicht gelungen, sondern Voraussetzung für die Verschleimung ist die Temperatur von 22°. Diese unter besonderen, ich möchte fast sagen, abnormen Bedingungen erzeugte Verschleimung durch Zusatz von chemischen Stoffen sollte nicht nur in ihren Ursachen, sondern auch in ihren Folgen für die Artbeständigkeit eingehender untersucht werden. Gerade deshalb war es nötig, gleichmäßigere Nährbodenverhältnisse zu schaffen, als sie in Nähagargemischen gegeben sind und von dem Wort Wallbildung abzusehen und durch Einführung des Begriffes Verschleimung die differentialdiagnostische Bedeutung der Erscheinung in den Hintergrund, die Veränderung der Bakterienzelle in den Vordergrund treten zu lassen. Es mag dahingestellt sein, ob die Verschleimung etwas Krankhaftes, ein Art Ueberernährung darstellt. Sie könnte besonders bei Arten, die sie normaler Weise nicht zeigen wie *Breslaustämmen*, eine durch besondere Nährbodenverhältnisse erfaßte Zustandsform sein, die in

der Natur normaler Weise vorhanden ist. Es blieb uns also nichts Anderes übrig, als nach Stoffen zu suchen, die gleichzeitig Wachstum und Verschleimung gewährleisteten. Wir haben deshalb zu dem obenbeschriebenen Wasseragar als Grundlage die einzelnen Bestandteile der eiweißfreien Nährflüssigkeit nach FRÄNKEL gegeben.

- A. 3 % Wasseragar + 0,5 % Kochsalz.
- B. 3 % Wasseragar + 0,2 % Dikaliumphosphat.
- C. 3 % Wasseragar + 0,6 % Ammonium lacticum.
- D. 3 % Wasseragar + 0,4 % Natrium asparaginum.

Auch alle möglichen Kombinationen dieser Stoffe wurden auf ihre schleimbildenden Eigenschaften untersucht. Als Kontrolle diente wiederum Wasseragar ohne Zusätze.

ERGEBNIS. Nur in den Zusammensetzungen, wo Ammonium lacticum vorhanden war, zeigte sich fast stets mehr oder weniger deutliche Schleimbildung, nicht nur bei den Arten der Paratyphusgruppe, die auch auf Nähragar verschleimen (Gärtner und Schottmüller), sondern auch dort, wo dies sonst nicht der Fall ist (Breslaustämme). Da wir auf Nährboden C. bessere oder gleichgute Ergebnisse hatten, als auf allen anderen Gemischen, haben wir dann auf diesem Nährboden ohne alle weiteren Zusätze weitergeartet.

BRAUN und CAHN-BRONNER haben festgestellt, daß Paratyphusbazillen mit 0,2 % Kalium biphosphat + 0,6 % Ammonium lacticum in Nährflüssigkeiten bei reichlichem Zutritt von Sauerstoff schließlich dauernd wachsen können. Ein geringerer Gehalt unseres Wasseragars an derartigen Salzen wird sicherlich anzunehmen sein, zumal seit einem Jahr die Ergebnisse stets gleichmäßig ausgefallen sind.

Verfuche mit Ammonium lacticum.

Die Beimpfung dieser Ammonium lacticum - Wasseragarplatten haben wir sowohl aus Nährbrühe, wie aus 0,6 %iger Ammonium lacticumlösung vorgenommen. Ein Unterschied war nicht zu bemerken. Bevor wir uns aber dazu entschlossen, der Einfachheit und gleichmäßigerer Resultate halber stets Brühkulturen zu benutzen, haben wir uns mehrfach durch Züchten in Passagen davon überzeugt, daß die Stoffe der Ausgangskultur, die den Keimen der ersten Passage noch anhaften könnten, für die Schleim- und Schleimwallbildung auf Ammonium lacticum - Agar keine Rolle spielen. Über den Ausfall derartiger Verfuche gibt folgende Tabelle Auskunft:

ANMERKUNG: In der Tabelle bedeuten:

- + Schleimwall nur mikroskopisch sichtbar;
- ++ " eben makroskopisch sichtbar;
- +++ " deutlich makroskopisch sichtbar;
- ++++ starke Verschleimung, Impfstrich und Punkt, aber in der Mitte noch schleimfrei;

+++++ völlige Verschleimung.

Die Ablesung erfolgte nach drei Tagen bei 37° und 4 Tagen bei 22°

Amm. lact. Zusatz:	7. V.	10. VI.	14. VI.	18. VI.	23. VI.	2. VII.	8. VII.
0,5%	+	+	++	+	+	+	+
1,0%	++++	++++	++	++++	++	++++	++
1,5%	++++	++++	++++	++++	++++	++	++++
2,0%	+++++	++++	++++	++++	fehlt	++	++++
3,0%	+++++	+++++	+++++	+++++	++++	++++	++++
4,0%	fehlt	++	++	++++	++	++++	++++
5,0%	++++	++	++++	++	++	++++	++++

Wesentlich ist, daß gleichgültig, ob von fleischwasserhaltigen oder synthetischen Nährmitteln ausgefät wurde, niemals auch bei monatelanger Beobachtung, auch nur eine Spur von Verschleimung selbst bei den besten Schleimbildnern auf Wasseragar ohne Zusatz festzustellen war. Die Abhängigkeit von Wachstum und Schleimwallbildung ist vor allem bei Zufätzen bis 0,5 % Ammonium lacticum mit schlechten Schleimwallbildnern, etwa alten Gärtnerstämmen, sichtbar zu machen. Wir finden dann, daß erst bei einer bestimmten Konzentration neben dem Wachstum Schleimwallbildung auftritt eine Bestätigung für unsere Ansicht, daß die Verschleimung der Keime auf eine quantitativ bessere Ernährung zurückzuführen ist.

Wallstärke nach 5 Tagen bei 22° in mm.

Amm. lact.	0%	0,1%	0,2%	0,3%	0,4%	0,5%	Bemerkung.
Schott. 241	0	0	0,7	0,7	1,33	2,7	Bei 0% fehlt auch Kummerwachstum, bei 0,1% Wachstum ebensogut, wie bei 0,5%
„ 246	0	0	0,6	0,7	1,25	2,65	
„ 242	0	0	0,65	1,0	2,0	2,60	
„ 245	0	0	0,8	1,33	2,0	2,0	
„ 248	0	0	0,4	0,4	0,7	0,8	
Gärt. 324	0	0	0	0	0	0,3	
„ 5611	0	0	0	0	0	0	

Bei Zufätzen von Ammonium lacticum über 0,5 % bis 5 % wird die Schleimbildung ungemein gesteigert, während das Wachstum von 1 % ab seine Stärke ungefähr beibehält und von 3 % eher ab- als zunimmt.

Die Verschleimung ist nicht von einer bestimmten Konzentration des Ammonium lacticum abhängig. Im allgemeinen kann man aber sagen, daß die besten Bedingungen dafür um 2-3 ‰ liegen. Die Verschleimung von Breslaustämmen ist in noch geringerem Grade von dem Zusatz an Ammonium lacticum abhängig. Es scheint hier darauf anzukommen, ob in der Auslaar viele oder wenige Keime vorhanden sind, die auf die einseitige Ernährung mit Ammonium lacticum in Form der Verschleimung antworten.

Schleimwall- und Schleimbildung in ihrer Abhängigkeit von der Menge des Ammonium lacticum bei den einzelnen Paratyphusarten.

Wir haben auf diesem synthetischen Nährmittel seit einem Jahr fortlaufend Paratyphuskeime ausgefütet. Es wurde stets ein Plattenlaar benützt, der außer der Kontrolle 0,5-5 ‰ in einigen Versuchen 0,1-5 ‰ Ammonium lacticum enthielt.

1.) Schottmüllerstämmen.

a) Frische und alte Schottmüllerstämmen bildeten stets nach 24-48 stündiger Bebrütung bei 37° und darauf folgender Aufbewahrung bei 22° so beträchtliche Mengen von Schleim, daß in geeigneten Konzentrationen nicht mehr von Schleimwallbildung die Rede sein konnte. Wir fanden häufig entsprechend der Strich- und punktförmigen Auslaar nur noch einen Schleimstrich und Schleimpunkt. Am besten tritt die Erscheinung bei Zusatz von zwei bis 3 ‰ Ammonium lacticum auf.

Die Stärke der Schleimbildung steht in keinem direkten Verhältnis zur Stärke des Wachstums. Wir finden zwischen 1-5 ‰ wenigstens makroskopisch gleiche Wachstumsstärke trotz verschiedener Schleimwallbildung. Es zeigt sich also hier deutlich, daß ein chemischer Stoff, der an sich wachstumsfördernd wirkt, in stärkeren Konzentrationen die Schleimbildung mehr beeinflußt als das Wachstum.

b) Wir haben ferner die Auslaaren nur bei 22° bebrütet und schon nach 24-36 Stunden, selten erst nach 48 Stunden, völlige Verschleimung des Impfstriches und -punktes gesehen.

c) Je stärker die Schleimbildung, desto geringer ist die Adsorption des Lakmusfarbstoffes. Schottmüllerstämmen zeigen deshalb in optimalen Konzentrationen für die Wallbildung stets eine matte graue Farbe.

2.) Breslaustämme.

a) Frische und alte Breslaustämme, die auf Gelatine nur weinblattförmige Kolonien bildeten, zeigten, selbst wenn die Beobachtungen bei 22° bis zu acht Tagen ausgedehnt wurden, selten Schleim oder Schleimwallbildung. Wohl aber trat nach dieser Zeit in der Mehrzahl der Untersuchungen, besonders bei Zusatz von 3-5 ‰ Ammonium lacticum, eine zunächst nur bei mikroskopischer Vergrößerung stellenweise sichtbare Streifung der Randzone auf. Bei weiterer Bebrütung tritt als Ausdruck des „potentiellen Vermögens“ (ELKELES) der Breslaustämme, Schleim zu bilden, die sog. „Schleimknospe“ auf. Sie quillt tröpf-

chenartig aus dem Rande des Bakterienrasens hervor und wächst wochenlang weiter.

b) Breslaustämme zeigen, wenn sie nur bei 22° gehalten werden, ein ähnliches Verhalten, wie es unter 2 a) geschildert ist.

c) Die Adsorption des Lakmusfarbstoffes war meist so stark, daß allein dadurch Breslau von Schottmüller unterschieden werden konnte. Nur an den Stellen, wo kümmerliche Schleimwall- oder Knospenbildung vorhanden war, fehlte die Adsorption des Lakmusfarbstoffes. Es wurde auch festgestellt, daß mit zunehmender Konzentration des Zusatzes von Ammonium lacticum die Adsorption abnahm.

Wir möchten hier ausdrücklich hervorheben, daß wir sowohl bei frischen wie bei alten Breslaustämmen derart verkümmerte Schleimwallbildung sahen, können aber mit gutem Gewissen sagen, daß uns eine Unterscheidung von Schottmüller Breslau bei kurzer Brütungszeit jederzeit möglich war.

3.) Fleischvergifter (Typus Freiburg?)

Im Laufe des Sommers erhielten wir auch neun Stämme als Breslaustämme, die typische Enteritis hervorgerufen hatten. Da wir gewohnt sind, jeden erhaltenen Stamm sofort auf Gelatineplatten zu bringen, ergab sich, daß zwei Wuchsformen, Weinblattformen und Kuppenformen, vorhanden waren. Zunächst dachten wir natürlich an zufällige Verunreinigung oder Mischinfektion, kamen aber, als sich die Fälle häuften, zur Überzeugung, daß hier ein besonderer Typ von Fleischvergiftern vorliege. Wir brachten zunächst auf unsere Ammonium lacticumreihe Aussaaten von Kuppen- und Weinblattformen bebrüteten bei 37° und dann bei 22°. Die Weinblattformen, verhielten sich wie die oben geschilderten Breslaustämme, die Kuppenformen wie Schottmüllerstämme. Ein Unterschied bestand nur darin, daß bei Kuppenformen die ausgeprochene Verschleimung des gesamten Bakterienrasens nie eintrat, wohl aber eine deutliche Schleimwallbildung, vor allem in Konzentrationen unter 3%. Bei Zusätzen über 3% sahen wir trotz reichlicher Versuche nie Schleimwallbildung. Wir können uns das nur so erklären, daß wir stets bei Ausfaat kuppenförmiger Kolonien zwei Keimformen ausließen, eine, die zur Verschleimung und eine, die schon zur schleimlosen Weinblattform neigt. Den Beweis hierfür kann man, wie KNORR gezeigt hat, durch Passagen von Kuppenformen in Gelatinemischplatten erbringen.

Es ist wohl sehr wahrscheinlich, daß außer dem Gärtnerbazillus und dem typischen Breslau, der auf Gelatine nur und stets in Weinblattform ohne die strahlenförmige Zeichnung wächst, und der niemals Kuppenform abspaltet, noch ein Erreger der Fleischvergiftung vorkommt. Er verhält sich in seiner Neigung, das Schleimwallbildungsvermögen zu verlieren, ähnlich wie Gärtner, kann aber serologisch von ihm getrennt werden. Unsere bisherigen serologischen Untersuchungen mit verschiedenen Breslau-, Schottmüller-, Pestifer- und Abortussera brachten nur die Gewißheit, daß dieser als Kuppenform am nächsten mit Schottmüller und als Weinblattform am nächsten mit Breslau verwandt ist. Bei dem morphologischen Verhalten wäre ja leicht anzunehmen gewesen, daß die Stämme in die Abortus- und Pestifergruppe gehören. Wir sind damit beschäftigt, die Stämme eingehender serologisch zu untersuchen, glauben aber jetzt schon, sie als Fleischvergifter Freiburg (UHLNUT — SEIFFERT) anzusprechen.

zu dürfen. Diese Annahme scheint um so mehr berechtigt, als diese Autoren angeben, daß sie den Typus Freiburg sowohl in den Typus Breslau, wie auch in den Typus Paratyphi *B. hominis* übergeführt hätten.

Eine abgespaltene Kuppenform unterscheidet sich in der Regel nur dadurch vom Bazillus- paratyphi *B. hominis*, daß sie frisch vom Körper weg die ausgesprochene Neigung hat, Weinblattformen abzuspalten und damit die Wallbildung zu verlieren. Die Weinblattform nur dadurch vom Bact. enteritidis Breslau, daß sie äußerst selten eine Kuppenform abgespaltet, was ein echter Breslaustamm nach unseren Beobachtungen überhaupt nicht kann.

Wir nehmen an, daß die früheren Beobachtungen von HAGE, BITTER, KNORR, und den neuerlichen von LEONHARDT derartige Stämme zu Grunde liegen können.

Durch diesen neuen Typ wird ohne Zweifel die differentialdiagnostische Bedeutung der Wallbildung eingeengt. Man kann diese Schwierigkeit nach unseren Erfahrungen nur dadurch umgehen, daß man Gelatineplatten gießt. Ein echter Schottmüllerstamm hat bei uns in frischem Zustande noch nie Weinblattform abgespalten.

4.) Andere Angehörige der Paratyphusgruppe.

Von den übrigen bisher geprüften Angehörigen der Paratyphusgruppe ist hervorzuheben:

a) Bact. enteritidis Gärtner, dieses verhält sich ähnlich wie die Kuppenformen des ebenbeschriebenen Fleischvergiftertyps. Es fiel aber auf, daß die Schleimwallbildung nach kurzer Zeit auf Ammonium lacticumagar auftrat, während sie bei gewöhnlichen Nährmitteln überhaupt ausblieb.

b) CI und CII - Stämme, die keine Walle auf Nähragar mehr bildeten und dementsprechend auf Gelatinemischplatten nur in Weinblattform wuchsen, unterschieden sich von Breslaustämmen nur durch die auffallend schwache Lakmusadsorption.

c) Abortus equi - Stämme, die ebenfalls auf keinem Nährmittel mehr Schleimwallbildung zeigten, verschleimten auf Ammonium lacticumagar deutlich.
Andere Zusätze zu Wasseragar.

1.) Milchsaure Salze.

a) Natrium lacticum.

Auch nach Zufügen von Natrium lacticum von 0,5 bis 5% zu Wasseragar zeigten sich die gleichen Erscheinungen wie bei Ammonium lacticum, sodaß auch die nicht so leicht dislozierbare Verbindung wie Ammonium lacticum benutzt werden kann.

b) Calcium lacticum.

Auch mit Calcium lacticum haben wir Versuche angestellt, die ebenfalls Förderung der Wallbildung durch das milchsaure Salz ergaben. Die optimale Konzentration für die Verschleimung lag bei 0,8%.

Aus diesen Versuchen dürfte hervorgehen, daß milchsaure Salze überhaupt die Anlage sämmtlicher Paratyphuskeime zur Verschleimung steigern können, in einem Maße, daß die auf Nähragar so beständige Möglichkeit der Typentrennung mit Hilfe des Phänomens der Schleimwallbildung verlagert.

Weitere Untersuchungen über Körper aus der Gruppe der milchsauren Salze haben wir nicht angestellt.

2) Traubenzucker.

Setzt man chemisch reinen Traubenzucker von 0,25 bis 1,0 % zu Wasseragar, so tritt insbesondere bei 22° eine deutliche Verschleimung auf, die sich zunächst dort entwickelt, wo die ersten Spuren von Säuerung auftreten. Die Verschleimung ist jedoch lange nicht so gleichmäßig zu erzielen wie mit Ammonium lacticum. Entsprechende Auskulturen auf Milchzuckeragarplatten hatten naturgemäß nur ganz schwaches Wachstum ohne Verschleimung zur Folge, und wir sehen aus diesen Versuchen besonders deutlich, wie die durch das Kummerwachstum verursachte Zerlegung des Traubenzuckers allmählich den Typ der Keime fördert, der auf eine einseitige Ernährung mit Verschleimung reagiert.

C. Morphologische Untersuchungen der verschleimten Keime.

Wir haben zunächst vom nichtverschleimten und verschleimten Teil des Bakterienrasens, der auf gewöhnlichem Nähragar gewachsen war, Geißelfärbungen nach ZETTNOW gemacht. Entsprechend unseren Beobachtungen im Dunkelfeld, zeigte sich, daß die Bakterien der nicht verschleimten Teile wie gewöhnlich gute peritriche Begeißelung zeigten, dagegen die Keime der verschleimten Teile nur äußerst selten einige Geißeln aufwiesen. Auf Ammonium lacticumwasseragar zeigen sich durchwegs die Keime geißelärmer, gleichgültig ob man von verschleimten oder nicht verschleimten Teilen Untersuchungsmaterial entnimmt. Es liegt also hier eine ähnliche Erscheinung vor, wie wir sie etwa auf Hungernährböden oder durch Zusatz entwicklungshemmender Mittel auch auf Nähragar erzeugen können. Auf alle Fälle geht aus diesen Beobachtungen hervor, daß das Ektoplasma auf Ammonium lacticum - Wasseragar stark verändert wird. Unsere Versuche, die Ursache der Verschleimung morphologisch darzustellen, sind bisher nicht ganz eindeutig ausgefallen. Nach HEIM müssen wir unterscheiden:

a) Die Schleimschicht des Ektoplasmas bzw. die Membran, die sich mit rotstichigem Methylenblau nie rosa färbt.

b) Die Hülle gewisser Bakterien, auch Kapsel genannt, die als ein Absonderungsprodukt von schleimigem Charakter angesprochen wird, und sich mit rotstichigem Methylenblau rosa färbt. HEIM glaubt, daß die auf Gelatine verschleimten Paratyphusbazillen nur eine Schleimschicht der Membran aufweisen, die die schleimige Beschaffenheit der Kultur bedinge. Unsere Untersuchungen auf gewöhnlichem Nähragar ergaben:

1.) Bei Färbung mit rotstichigem Methylenblau tritt der Unterschied zwischen verschleimten und nicht verschleimten Teilen dadurch auf, daß letztere in der Tat eine schwächere Außenhülle (Schleimschicht der Membran) aufwiesen. Außerdem aber ist außerhalb dieser Hülle bei Kulturen aus verschleimten Teilen eine deutlich rosa gefärbte, nach außen nicht scharf begrenzte Zone zu bemerken, die man nach den Ausführungen HEIMS wohl als kapselähnliche Substanz ansprechen darf. Auf Ammonium lacticum - Wasseragar gewachsene Keime unterscheiden sich auch nach Färbung mit rotstichigem Methylenblau nicht zu stark in der Ausdehnung der Schleimschicht der Membran, wenn sie von verschleimten oder nicht verschleimten Rasenteilen stammen. Ja, es hat sogar den Anschein, als ob die Keime aus dem Kolonieninneren nach Beizung voluminöser werden als die aus den verschleimten Partien.

2.) Mit der JOHNE'schen Kapselfärbung zeigen sich ähnliche Verhältnisse wie mit rotstichigem Methylenblau, nur liegen sie hier klarer. Bei Präparaten aus verschleimten Teilen sehen wir von innen nach außen folgende Färbungen: Dunkelviolett, das Endoplasma, ungefärbt die Schleimschicht der Membran, stark rosa gefärbt eine an die Membran anschließende Zone. Aus nicht verschleimten Teilen hergestellte Präparate zeigen dagegen nur das dunkelviolett gefärbte Endoplasma.

3.) Mit Hilfe von Tuschepräparaten mit und ohne Fuchsinfärbung war auffallenderweise eine Darstellung kapselähnlicher Teile nicht möglich, was für die Ansicht HEIMS spricht, daß die Verkleimung bei Paratyphusbazillen nur auf die Schleimschicht der Membran zurückzuführen sei.

Die Form des Endoplasmas der Bazillen wird im allgemeinen umföhr mehr kokkenähnlich, als die Verkleimung zunimmt. Auf Ammonium lacticum - Agar sehen wir wiederum keinen wesentlichen Unterschied zwischen dem inneren und äußeren Teil des Bakterienrasens, doch hat man den Eindruck, daß die im Inneren gelegenen und dadurch schlechter ernährten Bakterien voluminöser seien, als die unter besseren Ernährungsbedingungen befindlichen Keime der äußeren Teile des Rasens. (Involutionsform)

Somit ergibt sich aus diesen Beobachtungen, daß den wesentlichen Anteil an der Verkleimung nicht die Schleimschicht der Membran hat, sondern ein von dem Ektoplasma ausgehendes Produkt, das sich mit rotstichigem Methylenblau rosa färbt, aber wegen seines sonstigen färberischen Verhaltens nicht als eine kapselähnliche Substanz gedeutet werden kann.

Mit der stärkeren Ausprägung der ektoplasmatischen Schleimschicht und der Produktion eines schleimigen Stoffes verschwinden die Geißeln. Auf Ammonium lacticum - Agar sind die färberischen Unterschiede zwischen nicht makroskopisch sichtbar verschleimten Teilen nicht so deutlich ausgeprägt wie auf gewöhnlichem Nähragar. Als Ursache muß angenommen werden, daß die einseitige Ernährung mit Ammonium lacticum eine derartige Veränderung im Aufbau des

Bakterienleibes bedingt. Derartig veränderte Bakterien können dann bei entsprechenden Zusätzen von Ammonium lacticum leichter zur Erzeugung derjenigen Stoffe, die den schleimigen Charakter der Kultur bedingen, veranlaßt werden. So wird es sich wohl erklären, daß auch Breslaustämme, die normalerweise auf Nähragar nicht verschleimen, durch Zusatz von Ammonium lacticum zu Waffleragar fast regelmäßig Verschleimung zeigen.

Zusammenfassung.

1.) Es gelingt durch Zusatz von Kochsalz zu Nähragargemischen entsprechend den Angaben von ELKELES frische Breslaustämme zur Wallbildung zu bringen. Es gelang uns aber auch mit einigen älteren Stämmen diese Erscheinung zu erzeugen.

2.) Traubenzucker ist in Nähragargemischen nachteilig für die Schleimwallbildung.

3.) Die Erscheinung der Verschleimung läßt sich eindeutiger erfassen, wenn man statt Nähragar Waffleragar als Grundlage nimmt. Kochsalz ist dann im Gegensatz zu Traubenzucker nicht in der Lage, die Paratyphusbazillen zum Verschleimen zu bringen.

4.) Durch Zusatz von Ammonium lacticum zu Waffleragar gelingt es stets, sämmtliche Paratyphusbazillen einschließlich der sonst nicht zur Verschleimung neigenden Breslaustämme zur Verschleimung zu bringen. Auch andere milchlaure Salze hatten die gleiche Eigenschaft.

5.) Gleichzeitig mit der Verschleimung ändert sich der Aufbau der Bakterienzelle. Es kommt zum Verlust der Geißeln und zur Vergrößerung der Schleimschicht der Membran. Kapselähnliche Stoffe ließen sich nicht mit Sicherheit nachweisen. Für das Vorhandensein kapselähnlicher Schichten spricht der nach außen nicht scharf begrenzte rosa gefärbte Saum um die Schleimschicht der Membran nach Färbung mit rotlichem Methylenblau. Gegen das Vorhandensein die nicht gelungene Darstellung dieser Kapsel in Tuschepräparaten. Tuschepräparate mit Fuchsin gefärbt zeigten zwar eine als Endoplasma anzusprechende Schicht, rot gefärbt, aber die ungefärbte Schicht kann nur als Schleimschicht der Membran (Ektoplasma) angesprochen werden.

Literaturverzeichnis.

- BITTER, L. Zentralblatt für Bakteriologie, Abt. I Originale Band 85, Seite 110;
Bd. 88, S. 435
Zeitschrift für Hygiene, Bd. 90, S. 398; Bd. 100, S. 347
- BITTER, WEIGMANN, HABS, Münchener Medizinische Wochenschrift 1926,
S. 940
- BRAUN und CAHN - BRONNER, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. 1921 Bd. 86, S. 1
- DRIGALSKI, W., CONRADI, H. JÜRGENS G., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42 S. 141
- ELKELES, G., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 97, S. 295; Bd. 98 S. 326
- FISCHER, B. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39, S. 447
- HAGE, Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 94, S. 83
- HEIM, L., Münch. Med. Wochenschr. 1919, S. 1399
Lehrbuch der Bakteriologie, VI. und VII. Aufl. Stuttgart, Enke.
- KISSKALT, K. Praktikum der Bakteriologie, V. Aufl., Jena, Gustav Fischer,
S. 54.
- KNORR, M. Zentralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86, S. 596; Bd. 99, S. 25;
Bd. 101, S. 482; Bd. 102, S. 297.
- LEONHARDT, Ibid. Bd. 100, S. 168.
- MANTEUFEL und BEGER, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1921, Bd. 87, S. 101
- MÜLLER, R. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Orig. Bd. 95, S. 147.
Deutsche Med. Wochenschr. 1910, S. 2387.
Münch. Med. Wochenschr. 1914, S. 471.
- SEIFFERT, Münch. Med. Wochenschr. 1927, S. 445.
- UHLENHUTH, P., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85, S. 186.
Ibid. Bd. 97, S. 219.
- UHLENHUTH und SEIFFERT, Deutsche Med. Wochenschr. 1926, S. 649.

Zum Schluß sei mir noch gestattet, Herrn Geheimrat Professor Dr. Karl KISSKALT für die lebenswürdige Überlassung der Themas, sowie Herrn Privatdozent Dr. M. KNORR für die freundliche Unterstützung beim Werden meiner Arbeit meinen besten Dank zu sagen.

Lebenslauf.

Am 12. Februar 1903 wurde ich, Albrecht, Wilhelm, Karl BRAUN, als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Hermann Braun und seiner Frau Johanna, geb. Kemp, in Driefen (Neumark) geboren. Nach Besuch der Volks- und Mittelschule der Stadt Driefen trat ich im Herbst 1915 in das Stadtgymnasium der Stadt Stettin ein. Hier machte ich im Frühjahr 1922 mein Abiturientenexamen. Ich bezog dann die Universität Würzburg, um Medizin zu studieren und legte im Juli 1924 dort mein medizinisches Vorexamen ab. Im Wintersemester 1924 ging ich nach München, wo ich die zweite Hälfte meines medizinischen Studiums erledigte und von Anfang April bis Ende Juni 1927 mein medizinisches Staatsexamen ablegte.

